

University of Groningen

The induction of vitellogenin mRNA in avian liver

Boogaart, Paul van den

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1980

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Boogaart, P. V. D. (1980). The induction of vitellogenin mRNA in avian liver. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING

Vitellogenine is het precursor eiwit van de belangrijkste dooier-eiwitten lipovitelline en fosvitine; vitellogenine wordt gemaakt in de lever van leggende hennen onder invloed van oestrogenen. In hanen kan de synthese van vitellogenine worden geïnduceerd door inspuiting van 17β -oestradiol. Na inspuiting van dit hormoon neemt de snelheid van vitellogenine synthese enige dagen lineair toe. Deze toename valt samen met een toename in de hoeveelheid vitellogenine-synthetiserende ribosomen. Dit suggereert dat oestradiol een accumulatie van actieve vitellogenine mRNA moleculen in hanelevercellen veroorzaakt. De vraag of dit een gevolg is van een door oestradiol geïnitieerde transcriptie van het vitellogenine gen dan wel van een door oestradiol gereguleerde stap in de processing van primair transcriptie produkt tot actieve mRNA is hiermee echter nog niet beantwoord. Om deze vraag te kunnen beantwoorden is isolering en zuivering van vitellogenine mRNA noodzakelijk. Op de gezuiverde vitellogenine mRNA kan met behulp van het enzym reverse transcriptase een hoog radioactief gemerkte, enkelstrengs kopie-DNA worden gesynthetiseerd die als specifieke hybridisatie probe kan worden gebruikt voor de kwantificering van vitellogenine mRNA niveau's in hanelevercellen voor en op verschillende tijdstippen na inspuiting van oestradiol. De hierboven geschetste strategie voor de bestudering van de door oestradiol geïnduceerde synthese van specifieke eiwitten, i.c. vitellogenine, ligt ten grondslag aan de in dit proefschrift beschreven experimenten.

Na een algemene inleiding op het vitellogenine systeem in Hoofdstuk I, wordt in Hoofdstuk II aan de hand van een literatuuroverzicht uitgebreid ingegaan op bovengenoemde strategie. Begonnen wordt met een bespreking van verschillende methoden voor de isolering van eukaryote mRNA's. Het gebruik van cDNA hybridisatie technieken bij de bestudering van de hormonaal geïnduceerde synthese van specifieke eiwitten vormt het tweede onderwerp van dit hoofdstuk. Bovendien vindt in dit hoofdstuk een bespreking plaats van de eigen resultaten geplaatst tegen de achtergrond van het genoemde literatuuroverzicht.

De eigen resultaten staan vermeld in de hoofdstukken III tot en met V.

Hoofds

De geb

tegen v

worden

eiwitte

dan vit

zuiverh

mede de

Het

vitello

taten va

samengev

1) In de

vitel

2) Na in

in de

deze

name

een t

tijd

Deze res

voren ko

tie pla

een zoda

molecul

Voor

genine g

over eer

te besch

gevoelig

gevormd

van vite

Hoofdstu

van deze

Hoofdstuk III beschrijft de isolering van vitellogenine mRNA uit hanelever. De gebruikte methode is die waarbij met behulp van antilichamen gericht tegen vitellogenine specifiek de vitellogenine-synthetiserende polysomen worden neergeslagen, terwijl polysomen, bezig met de synthese van andere eiwitten, in oplossing blijven. Uit het gevormde immunoprecipitaat wordt dan vitellogenine mRNA geïsoleerd. De gevolgde methode, experimenten die de zuiverheid van het geïsoleerde vitellogenine mRNA preparaat aantonen alsmede de synthese van vitellogenine cDNA worden beschreven.

Het gebruik van deze cDNA bij de bestudering van de inductie van vitellogenine in de eend vormt het onderwerp van Hoofdstuk IV. De resultaten van dit gedeelte van mijn onderzoek kunnen als volgt worden samengevat:

- 1) In de lever van een niet met oestradiol ingespoten eend is geen vitellogenine mRNA aantoonbaar.
- 2) Na inspuiting van oestradiol neemt de hoeveelheid vitellogenine mRNA in de polysomale RNA fraktie van de lever sterk toe; de snelheid van deze toename verloopt echter niet geheel parallel met de lineaire toename in de snelheid van vitellogenine synthese. De resultaten wijzen op een toename in de translatie efficiëntie van vitellogenine mRNA enige tijd na inspuiting van oestradiol.

Deze resultaten zijn in overeenstemming met het ook uit de literatuur naar voren komende beeld dat in afwezigheid van oestradiol ofwel geen transcriptie plaatsvindt van het vitellogenine gen ofwel dat het primaire transcript een zodanig korte levensduur heeft in de kern dat geen vitellogenine mRNA moleculen het cytoplasma kunnen bereiken.

Voor de bepaling van de transcriptionele activiteit van het vitellogenine gen in aan- en afwezigheid van oestradiol is het noodzakelijk om over een gevoeliger hybridisatie probe voor vitellogenine mRNA sequenties te beschikken dan de bovengenoemde enkelstrengs kopie-DNA. Een zeer gevoelige, en bovendien volledig zuivere, hybridisatie probe wordt gevormd door een recombinant plasmide waarin een dubbelstrengs DNA-kopie van vitellogenine mRNA is geïnserieerd in een bacterieel plasmide. In Hoofdstuk V worden de synthese, identificatie en karakterisering van drie van deze recombinante plasmiden beschreven.

2521
1980